

电子自旋共振波谱法检测辐照中成药颗粒制剂

赵小俊, 傅俊杰, 汪志平, 孙志明, 汪海燕

浙江大学 农业与生物技术学院 原子核农业科学研究所/农业部核农学重点开放实验室, 浙江 杭州 310029

摘要: 目的 利用 ^{60}Co - γ 射线辐照对电子自旋共振(ESR)波谱特性的影响, 建立简便、快捷的辐照中药颗粒制剂检测方法。方法 2种中成药颗粒(妇乐颗粒和抗感解毒颗粒)样品分别经剂量率为1.0 kGy/h, 剂量为0、0.1、0.3、0.7、1、3、5、7、9 kGy的 ^{60}Co - γ 射线辐照处理, 用顺磁共振波谱检测仪对样品ESR波谱特性进行检测, 样品量为0.05 g, 每个样品3次重复。结果 辐照前后ESR波谱峰值有明显差异, ESR信号强度随辐照样品吸收剂量的增加而增强; 样品在室温下保存120 d, ESR信号强度随时间虽有变化, 但仍处于与对照组呈显著差异的水平。结论 利用ESR波谱法可简便、快捷、有效地鉴别中药颗粒制剂是否经辐照处理。

关键词: 中成药颗粒制剂; 电子自旋共振(ESR); 辐照

中图分类号: R917 R954 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2013)04-0293-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.04.014

Detection of irradiated granules preparation of Chinese patent medicine by ESR spectroscopy

ZHAO Xiao-jun, FU Jun-jie, WANG Zhi-ping, SUN Zhi-ming, WANG Hai-yan

Key Laboratory for Nuclear-Agricultural Sciences of Ministry of Agriculture, Institute of Nuclear Agricultural Sciences, College of Agriculture & Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

Abstract: Objective To develop a simple and convenient method to detect the granules preparation of Chinese patent medicine (GPCPM), based on the effect of ESR spectroscopy using ^{60}Co - γ ray irradiation. **Methods** Two kinds of GPCPM were irradiated by ^{60}Co - γ ray under nine doses (0, 0.1, 0.3, 0.7, 1, 3, 5, 7, and 9 kGy) at 1.0 kGy/h dose rate. The ESR spectroscopy was characterized by ESR detector with 0.05 g of sample and repeated for three times. **Results** It was shown that the ESR spectra were obviously different with or without irradiation. The intensity of ESR signal increased with the irradiation dose increasing, but decreased with the storage time expansion with a linear correlation. The intensity of ESR was weakened gradually during the storage at the room temperature for 120 d, though the ESR signal could be still detected. **Conclusion** The method of ESR spectroscopy is simple, rapid, and practically valuable for the identification of GPCPM irradiated or not.

Key words: granules preparation of Chinese patent medicine; ESR; irradiation

辐照技术作为一种冷的物理杀菌技术已在食品、药品生产中广泛运用^[1-3]。随着中药国际贸易量的不断上升, 欧美等发达国家凭借其在辐照检测鉴定技术上的优势, 对我国出口的辐照产品设置了大量技术壁垒, 极大限制了我国辐照产品的出口。我国在辐照产品检测方面的研究起步较晚, 尤其在中成药方面更为稀少, 目前还没形成统一的标准^[4]。因此, 研究辐照中成药的便捷检测方法, 为辐照中成药检测标准的制定以及为解决国际贸易纠纷提供技术支撑具有重要意义。

截至2004年, 国际食品法典委员会(CAC)先

后颁布了10项辐照食品的鉴定方法标准, 已成为各国辐照行业借鉴的主要参考标准^[5-6]。这些检测方法主要分为3大类, 即化学分析检测法、生物学分析检测法和物理分析检测法。

近年来, 国内学者利用食品、药品辐照后物理性质(电性质、黏度等)、化学反应、生物学特征(组织和形态特征)、微生物系统、昆虫等的变化检测辐照产品进行了大量研究工作, 并取得了一定成果^[7-11]。然而, 上述方法的适用范围不尽相同, 存在一定的局限性, 难以适用于不同种类辐照产品的检测。因此, 大力开展不同种类辐照产品鉴定检测

收稿日期: 2013-04-01

基金项目: 浙江省科技厅“核农学产业科技创新团队”(2010R50033)

作者简介: 赵小俊, 男, 实验师, 硕士。Tel: (0571) 86971498 E-mail: zhaoxiaojun@zju.edu.cn

技术与方法研究, 不断提高检测水平, 制定相应的辐照产品检测技术规范, 是推动我国对外贸易和促进辐照产品商业化进程的迫切需要和重要手段。

电子自旋共振 (ESR) 又称电子顺磁共振, 是直接检测和研究具有未成对电子的顺磁性物质的现代分析方法。辐射作用后产生的自由基中不带不成对电子, 该不成对电子的磁自旋运动没有被完全复合掉, 利用 ESR 对物质辐照形成的长寿命自由基进行跟踪^[12-14]进行辐照检测。ESR 法具有准确灵敏的优点, 可检测下限 0.2 kGy 的辐照产品^[15]。本研究对 2 种中药颗粒辐照剂量、贮存时间与 ESR 强度的关系进行分析, 为 ESR 检测法检测中成药颗粒剂提供基础数据。

1 材料和方法

1.1 材料

妇乐颗粒由杭州天目山药业股份有限公司提供, 批号 110602; 抗感解毒颗粒由大连美创药业有限公司生产, 批号 110509。两种试验样品的含水量均为 10%, 用双层聚乙烯 (PE) 自封袋包装, 每袋 50 g, 各 27 袋。

1.2 方法

1.2.1 辐照装置和剂量测定 辐照处理在浙江大学辐照中心进行^[16], 钴源放射性活度为 3.89 PBq, 常温辐照, 剂量率 1.0 kGy/h。采用重铬酸银剂量计测定样品的辐照吸收剂量^[17]。辐照剂量设定为 0、0.1、0.3、0.7、1、3、5、7、9 kGy, 每组 3 个平行样品, 辐照后常温保存。

1.2.2 ESR 测量方法 用德国 BRUKER 公司生产

的顺磁共振波谱仪 (ESRA—300 型) 进行测量^[18], 测量的中心磁场 (Center Field) 3 513.50 G; 微波功率 0.120 mW, 微波频率 9.841 GHz, 调制频率 100 kHz, 调制幅度 3.00 G, 温度 20 °C。测量样品质量为 0.05 g, 每个样品 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 辐照诱发中药颗粒剂 ESR 波谱特征

辐照处理后, 中药颗粒剂吸收一定的辐照剂量后而产生相应浓度的自由基, 当与周围外加磁场相互作用时会发生自旋共振吸收现象。从图 1 可明显看出, 未经辐照的中药颗粒剂样品 ESR 波谱在同一水平线上产生微小的上下波动, 没有明显的共振吸收峰。经 0.1、3、9 kGy 剂量辐照后, 出现一个典型特征的吸收峰, 波谱信号强度随辐照剂量的增加而增高, 根据波谱峰的差异, 可以鉴别辐照与未辐照中药颗粒剂。

2.2 ESR 信号强度与辐照吸收剂量的关系

⁶⁰Co- γ 射线对辐照样品的 ESR 性质发生了显著的影响, 辐照剂量与样品的 ESR 强度也存在一定的相关性。由图 2 可见, 妇乐颗粒和抗感解毒颗粒两种不同中药颗粒在 γ 射线辐照下产生的 ESR 信号强度的大小存在差异, 其变化趋势相似, ESR 信号强度随吸收剂量增加而增强 (图 2)。因此, 也可以通过测定不同中药颗粒 ESR 信号的强度推断中药颗粒剂所吸收的剂量。

2.3 ESR 峰值与贮存期的关系

为确定贮存期对 ESR 信号强度的影响, 在相同贮存条件下检测不同贮存时间 (5、30、60、90、

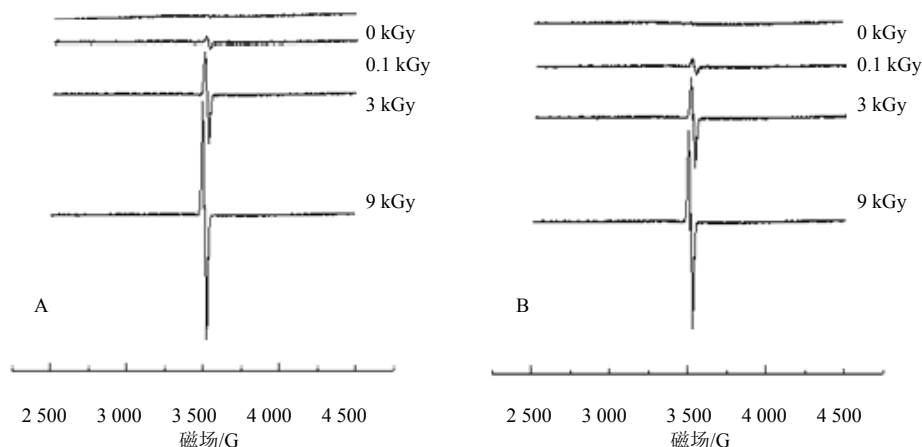


图 1 辐照和未辐照妇乐颗粒 (A)、抗感解毒颗粒 (B) 的 ESR 波谱

Fig. 1 Typical ESR spectra of the granules of the Fu-le medicine (A) and Anti-cold and detoxification medicine (B) with or without irradiation

120 d) 同一批样品。对表 1 各辐照剂量、不同贮存时间 ESR 峰值与贮存时间的数据作线性拟合分析, 可得各辐照剂量不同贮存时间 ESR 信号峰值 (E)

与贮存时间 (T) 的拟合方程式及相关系数 (表 2), 结果显示各辐照剂量的 ESR 峰值均随贮存时间的增加而减弱, 线性相关较为显著。

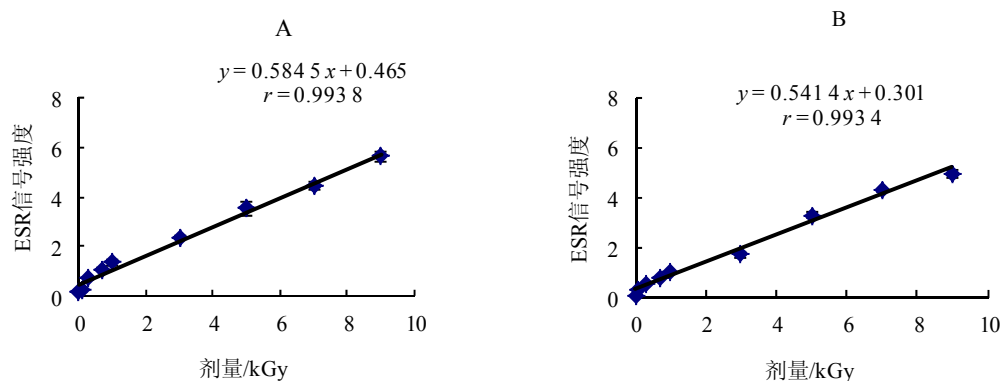


图 2 妇乐颗粒 (A)、抗感解毒颗粒 (B) ESR 强度与辐照剂量的关系

Fig. 2 The connection between irradiation doses and intensity of ESR signal of the granules of Fu-le medicine (A) and Anti-cold and detoxification medicine (B)

表 1 不同贮存时间的辐照中成药颗粒制剂 ESR 信号强度

Table 1 Relationship of intensity of ESR signal with storage time of Chinese patent medicines after irradiation

中成药	时间/d	信号强度								
		0 kGy	0.1 kGy	0.3 kGy	0.7 kGy	1 kGy	3 kGy	5 kGy	7 kGy	9 kGy
妇乐颗粒	5	0.12±0.00	0.25±0.02	0.68±0.02	1.06±0.05	1.35±0.11	2.36±0.06	3.54±0.29	4.45±0.16	5.63±0.20
	30	0.09±0.00	0.23±0.02	0.62±0.01	0.98±0.06	1.28±0.04	2.18±0.02	3.38±0.15	4.30±0.12	5.48±0.13
	60	0.06±0.00	0.22±0.00	0.57±0.01	0.93±0.01	1.22±0.03	2.06±0.04	3.25±0.25	4.16±0.05	5.32±0.12
	90	0.03±0.01	0.19±0.00	0.52±0.03	0.82±0.00	1.18±0.02	1.93±0.00	3.08±0.10	4.02±0.12	5.12±0.02
	120	0.02±0.00	0.18±0.00	0.48±0.00	0.75±0.03	1.12±0.00	1.75±0.03	2.98±0.09	3.88±0.12	4.96±0.09
抗感解毒颗粒	5	0.08±0.00	0.29±0.01	0.52±0.03	0.76±0.03	1.02±0.02	1.69±0.11	3.28±0.12	4.25±0.07	4.95±0.15
	30	0.06±0.00	0.25±0.00	0.48±0.00	0.69±0.03	0.98±0.00	1.62±0.00	3.16±0.08	4.11±0.06	4.80±0.10
	60	0.05±0.00	0.23±0.02	0.43±0.01	0.66±0.00	0.92±0.01	1.56±0.05	3.01±0.09	3.98±0.18	4.62±0.04
	90	0.04±0.00	0.20±0.00	0.38±0.01	0.58±0.00	0.88±0.02	1.48±0.03	2.86±0.04	3.82±0.03	4.51±0.07
	120	0.02±0.00	0.18±0.01	0.36±0.00	0.52±0.02	0.80±0.01	1.32±0.06	2.72±0.07	3.66±0.06	4.33±0.09

表 2 辐照中成药颗粒制剂 ESR 信号强度随贮存时间变化的拟合方程

Table 2 Equation for fitting ESR intensity and storage time of Chinese patent medicines after irradiation

中成药	辐照剂量/kGy	拟合方程	r	P	中成药	辐照剂量/kGy	拟合方程	r	P
妇乐颗粒	0	$E=0.123\ 6-0.001\ 1T$	0.999\ 1	0.001	抗感解毒颗粒	0	$E=0.078\ 4-0.000\ 5T$	0.973\ 9	0.002
	0.1	$E=0.253\ 3-0.000\ 7T$	0.982\ 0	0.002		0.1	$E=0.289\ 2-0.001\ 0T$	0.986\ 1	0.002
	0.3	$E=0.683\ 2-0.001\ 9T$	0.996\ 0	0.000		0.3	$E=0.522\ 2-0.001\ 4T$	0.990\ 8	0.001
	0.7	$E=1.072\ 4-0.002\ 7T$	0.990\ 0	0.000		0.7	$E=0.764\ 7-0.002\ 0T$	0.984\ 9	0.001
	1	$E=1.349\ 4-0.002\ 0T$	0.987\ 8	0.001		1	$E=1.027\ 9-0.001\ 7T$	0.997\ 1	0.000
	3	$E=2.360\ 0-0.004\ 9T$	0.990\ 8	0.000		3	$E=1.699\ 3-0.002\ 4T$	0.998\ 1	0.003
	5	$E=3.557\ 0-0.005\ 3T$	0.997\ 6	0.000		5	$E=3.306\ 4-0.004\ 9T$	0.999\ 9	0.000
	7	$E=4.464\ 0-0.005\ 0T$	0.998\ 2	0.000		7	$E=4.270\ 2-0.005\ 0T$	0.999\ 3	0.000
	9	$E=5.661\ 9-0.005\ 9T$	0.999\ 0	0.000		9	$E=4.962\ 7-0.005\ 2T$	0.997\ 0	0.000

3 讨论

研究表明, 中药颗粒制剂 ESR 波谱特征、信号强度与 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照密切相关, 而且 ESR 信号强度随辐照剂量的增加而增强, 呈线性相关。结合本研究结果和美国药典规定 (高剂量有效灭菌为 2.5 kGy, 中剂量为 1 kGy, 低剂量为 0.2~0.4 kGy) [19] 及我国卫生部文件 (卫药发 [1997] 38 号) 关于 ^{60}Co 辐照中药灭菌剂量标准 (散剂、片剂 3 kGy; 丸剂 5 kGy; 中药原粉 6 kGy), 认为用 ESR 波谱法检测辐照中药颗粒制剂是否经过辐照是可行的。研究发现辐照中药颗粒制剂 ESR 信号强度随贮存时间增加而减弱, 且 ESR 信号强度与贮存时间呈线性相关。如果在知道辐照日期的条件下, 可通过 ESR 信号强度和贮存时间关系式及 ESR 信号强度和吸收剂量关系式对产品吸收剂量进行估算。

未经辐照处理的中药颗粒制剂也有微小的 ESR 信号峰, 这可能与中药颗粒制剂中存在一定数量的长寿命自由基有关, 这有待在以后研究中进一步验证。研究表明同类产品之间 ESR 信号强度存在一定差异。这是由于 ESR 信号会受到湿度、气候和状态等诸多因素的影响 [20], 因此, 在试验样品的制备和测量过程中保持温度、湿度、理化性状基本相同下完成, 可有效地减少这些因素的干扰。然而, 中药颗粒制剂在实际生产过程中由于生产产家加工条件不一样, 可能对 ESR 波谱性状及强度产生一定影响, 出现差异, 要掌握这种差异必须综合考虑多方面因素, 并经过广泛的调查和对多种不同类型不同产家的中药颗粒制剂产品进行 ESR 波谱统计分析; ESR 信号强度与辐照剂量效应关系也需要反复试验。

参考文献

- [1] 李计萍. γ 射线辐照灭菌法在中药及其制剂中应用现状和相关问题讨论[J]. 核农学报, 2007, 21(6): 606-611.
- [2] 向大雄, 赵绪元. 钴-60 辐射灭菌在中成药中的应用[J]. 时珍国药研究, 1994, 5(2): 5-7.
- [3] 李继珊. 钴-60 辐照对中成药灭菌效果的检测 [J]. 中国消毒学杂志, 2002, 19(1): 36-38.
- [4] 张立雯, 江英桥, 林 彤, 等. 中药辐照检测研究现状概述 [J]. 中药材, 2011, 34(3): 482-487.
- [5] 哈益明, 周洪杰. 辐照食品分析检测技术的研究进展 [J]. 食品科学, 2005, 26(6): 260-265.
- [6] 冯 敏, 刘春泉, 朱佳廷. 辐照食品鉴定方法研究进展及展望 [J]. 江苏农业科学, 2007, 6: 271-274.
- [7] Raff J. Identifying irradiated foods [J]. *Trend Anal Chem*, 1998, 17(4): 226-233.
- [8] Delincée H. Analytical methods to identify irradiated food-a review [J]. *Radiat Phys Chem*, 2002, 63: 455-458.
- [9] 汪海燕, 徐晓洁, 叶庆富. 辐照食品检测技术的研究进展 [J]. 核农学报, 2004, 18(2): 137-141.
- [10] 陈 胜, 黄楚云, 李默然. 生物超微弱发光及其应用 [J]. 黄石理工学院学报, 2006, 22(4): 82-84.
- [11] 赵良娟, 郑文杰, 张宏伟, 等. 微生物筛选法检测辐照食品的研究 [J]. 食品研究与开发, 2010, 31(9): 118-120.
- [12] 励建荣, 曹科武, 贾 佳, 等. 利用电子自旋共振 (ESR) 技术对秘鲁鱿鱼中甲醛生成非酶途径中相关自由基的研究 [J]. 中国食品学报, 2009, 9(1): 16-21.
- [13] 谭媛媛, 阚登蕾, 赵小俊, 等. ESR 波谱法及其他物理法检测淀粉类辐照食品 [J]. 核农学报, 2009, 23(2): 294-296.
- [14] 赵保路. 电子自旋共振 (ESR) 技术在生物和医学中的应用 [J]. 波谱学杂志, 2010, 27(1): 51-67.
- [15] Shimoyama Y, Ukai M, Nakamura H. ESR detection of wheat flour before and after irradiation [J]. *Spectrochimica Acta Part A*, 2006, 63(4): 888-890.
- [16] 史建君, 孙志明, 王寿祥. ^{60}Co 辐照装置机电设备和安全联锁系统的设计 [J]. 浙江农业大学学报, 1996, 22(1): 77-79.
- [17] 史建君, 赵小俊. ^{60}Co 辐照室增源后剂量场的剂量测定 [J]. 核农学报, 1999, 13(2): 81-85.
- [18] 赵小俊, 傅俊杰, 谭媛媛, 等. 基于电子自旋共振 (ESR) 技术检测辐照玫瑰花茶 [J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2010, 36(6): 670-673.
- [19] 王锦燕. $^{60}\text{Co-}\gamma$ 辐照灭菌在中药及其制剂中的应用 [J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(6): 59-61.
- [20] Desrosiers M F, Mclaughlin W L. Examination of gamma-irradiation fruits and vegetables by electron spin resonance spectroscopy [J]. *Radiat Phys Chem*, 1989, 34(6): 895-898.